

Preparação e caracterização de um biocompósito obtido pela mistura de hidreto de titânio com nitrato de cálcio para implantes dentários

Preparation and characterization of a biocomposite Obtained from mixtures of titanium hydrate with calcium nitrate for dental implants

Fabio Nery¹, Enori Gemelli¹,
Nelson Heriberto Almeida Camargo¹, Vinícius André Rodrigues Henriques²

¹ Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Tecnológicas, Departamento de Engenharia Mecânica, Campus Universitário, Bairro Zona Industrial Norte, 89219-710, Joinville-SC, Brasil
e-mail: 2010fabionery@gmail.com; enori.gemelli@udesc.br; dem2nhac@joinville.udesc.br

² Centro Tecnológico Aeroespacial, Instituto de Aeronáutica e Espaço, Praça Marechal-do-Ar Eduardo Gomes, 50, 12228-904, São José dos Campos-SP, Brasil
e-mail: varh@hotmail.com

RESUMO

Neste trabalho foram realizados estudos sobre a fabricação de um biocompósito à base de titânio para implantes dentários a partir da mistura de pó de hidreto de titânio (92%) com nitrato de cálcio (8% em volume). O pó de hidreto de titânio foi adicionado na solução aquosa de nitrato de cálcio, dissolvido por agitação mecânica, e em seguida os precursores foram misturados e dispersados/homogeneizados por ultrassom. Posteriormente, a mistura foi secada em evaporador rotativo, compactada com 600 MPa à temperatura ambiente, desmoldada e sinterizada em alto vácuo a 1200 °C durante 2 horas. Foi analisada a microestrutura e fases formadas, as propriedades mecânicas, a rugosidade da superfície, a porosidade aberta, a molhabilidade da superfície e a citotoxicidade do biocompósito. As fases identificadas após a sinterização foram α -Ti e CaTiO_3 . O limite de resistência em compressão, o módulo de Young (E) e o ângulo de contato do biocompósito diminuíram significativamente com relação ao hidreto de titânio puro sinterizado nas mesmas condições. O limite médio de resistência em compressão do hidreto de titânio foi de 1794,67 MPa e do biocompósito foi de 481,36 MPa. O módulo de Young e o ângulo de contato do hidreto de titânio e do biocompósito foram de aproximadamente 112 GPa e 94 graus, e de 75 GPa e 83 graus, respectivamente. A rugosidade de superfície foi da mesma ordem de grandeza entre os materiais e ficou aproximadamente entre 1,4 e 1,5 μm (Ra) e 1,4 e 1,9 μm (Ra e Sa), medidas com rugosímetro de contato e com microscópio confocal a laser, respectivamente. A porosidade aberta do biocompósito sinterizado foi de aproximadamente três vezes maior do que aquela do hidreto de titânio sinterizado. Nos ensaios de citotoxicidade a porcentagem de células viáveis do biocompósito foi superior àquela do controle negativo e àquela do hidreto de titânio sinterizado.

Palavras-chave: titânio, nitrato de cálcio, biocompósito, implantes dentários.

ABSTRACT

A titanium-based biocomposite was prepared from titanium hydrate powder and calcium nitrate for dental implant applications. The minor precursor was added in the major precursor of titanium hydrate in the concentration of 8% in volume. Titanium hydrate was added in the calcium nitrate solution, previously dissolved by mechanical agitation in distilled water, and then mixed/homogenized by ultrasound. The mixture was dried in a rotating evaporator, pressed at 600 MPa at room temperature and vacuum sintered at 1200 °C during 2 hours. It was analyzed the microstructure and phases formed, the mechanical properties, the surface roughness, the open porosity, the surface wetness and cytotoxicity of the materials. The phases formed in the biocomposite after sintering were α -Ti and CaTiO_3 . The compressive strength, Young modulus (E) and contact angle of the biocomposite significantly decreased compared to the sintered titanium hydrate. The average compressive strength of the titanium hydrate was 1794,67 MPa and of the biocomposite was 481,36 MPa. The Young modulus and contact angle of the titanium hydrate and of the biocomposite were approximately

112 GPa and 94 degree, and 75 GPa and 83 degree, respectively. The surface roughness was of the same order among the materials and found to be between 1.4 and 1.5 μm (Ra), and 1.4 and 1.9 μm (Ra and Sa), measured with a roughmeter and with a laser confocal microscope, respectively. The open porosity of the sintered biocomposite was approximately three times higher than that of sintered titanium hydrate. The viability cell percentage of the biocomposite was higher than that of negative control or sintered titanium hydrate.

Keywords: titanium, calcium nitrate, biocomposite, dental implants.

1. INTRODUÇÃO

Os implantes dentários tornaram-se uma realidade para a reabilitação de pacientes parcialmente e/ou totalmente edêntulos, ampliando a atuação da odontologia cirúrgico-protética nos últimos 20 anos. A expansão da utilização de implantes teve início na década de 80, a partir de estudos de Brånemark e colaboradores, que começaram na Suécia nas décadas de 50 e 60 [1]. Desde então muitos foram os avanços científicos e pesquisas realizados na área. Atualmente, mais de 200 sistemas de implantes dentários estão disponíveis no mercado e outros tantos se fizeram presentes, mas por falta de embasamento científico sólido foram retirados do mercado [2].

O desenvolvimento de biomateriais é de fundamental importância na medicina e na odontologia, pois eles permitem uma melhoria na qualidade de vida das pessoas, representada por um aumento na expectativa de vida, na saúde em geral e no bem estar da população. A crescente demanda de biomateriais é atribuída principalmente a três motivos [3]: envelhecimento da população mundial; aumento do poder aquisitivo e do padrão de vida nos países em desenvolvimento; e as melhorias tecnológicas na abordagem de doenças anteriormente vistas como não tratáveis.

Segundo levantamento da Associação Brasileira da Indústria Médica, Odontológica e Hospitalar, cerca de 800 mil implantes e 2,4 milhões de componentes de próteses dentárias foram comercializados no Brasil em 2014 [4]. Analistas de mercado preveem um crescimento anual de 12,5% no período de 2012 a 2016 para os implantes dentários [5].

Os biomateriais mais empregados como substitutos ósseos são as biocerâmicas à base de fosfatos de cálcio, em particular a hidroxiapatita (HA), por ser um material bioativo. Contudo, estes materiais cerâmicos bioativos não são adequados para as condições onde há solicitações mecânicas no implante, devido à fragilidade e baixa resistência mecânica [6]. O titânio e suas ligas formam um conjunto de biomateriais com propriedades mais adequadas para implantes dentários, pois apresentam alta resistência à corrosão, boas propriedades mecânicas e são praticamente bioinertes por causa das características do filme de óxido que se forma na superfície do material [7]. Os implantes dentários comerciais são de titânio comercialmente puro (Ti cp) ou de liga de titânio Ti6Al4V.

O titânio não é um material bioativo como os fosfatos de cálcio ou biovidros. Para favorecer a neoformação óssea e garantir estabilidade biomecânica em menores períodos de tempo é essencial que a superfície do implante tenha características bioativas. Uma superfície bioativa tem a capacidade de trocar íons com o plasma sanguíneo funcionando como um sinalizador das células ósseas.

Na literatura encontra-se um número expressivo de publicações mostrando a deposição de fosfatos de cálcio ou fases bioativas por técnicas tais como *plasma-spraying*, *plasma-sputtering*, revestimento sol-gel, imersão coloidal e imersão em solução fisiológica simulada (deposição biomimética) seguidas de tratamentos térmicos, deposição eletroquímica etc., mas são deposições que apresentam inconvenientes de ordem mecânica e/ou morfológica que limitam o desempenho biológico do biomaterial e/ou o uso comercial. A maior limitação do uso comercial é o risco de delaminação entre o implante e o revestimento.

A fabricação de compósitos é uma das alternativas mais recentes de bioativação do titânio ou ligas de titânio. As principais vantagens dessa técnica é que ela permite a mistura de materiais dissimilares e a obtenção de biomateriais com certa porosidade de superfície, favorecendo a adesão e o crescimento celular sem a necessidade de ataque ácido [8]. Além disso, pode-se obter um material acabado após a sinterização com a formação de fases bioativas sem o risco de delaminação como ocorre com os revestimentos. A combinação das características das fases bioativas com as propriedades mecânicas do titânio é considerada como sendo uma metodologia promissora para fabricar biomateriais mais apropriados para aplicações com carregamento mecânico.

Trabalhos realizados com deposição de filmes de titanato de cálcio ou implantação iônica de cálcio no titânio mostraram que o titanato de cálcio é bioativo [9, 10] e pode ser obtido com a adição de um composto de cálcio. Durante a sinterização a reação do titânio com o composto contendo cálcio leva à formação de titanato de cálcio. Compostos contendo cálcio tais como o nitrato de cálcio são solúveis em água e facilmente

encontrado no mercado por baixo custo, ao contrário dos pós de hidroxiapatita ou fosfato tricálcico. Com isso, pode-se elaborar compósitos bioativos sem a necessidade de comprar ou fabricar, por uma etapa precedente, os pós de hidroxiapatita ou fosfato tricálcico. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi de desenvolver um compósito bioativo à base de titânio para acelerar e melhorar a osseointegração de implantes dentários utilizando-se como precursor majoritário o hidreto de titânio e o nitrato de cálcio como precursor minoritário.

Não há conhecimento de estudos na literatura científica sobre a fabricação de compósitos de titânio com nitrato de cálcio para a fabricação de biomateriais por metalurgia do pó. Os trabalhos existentes [8, 11] se limitaram basicamente ao estudo das fases formadas em compósitos fabricados com hidroxiapatita micro-métrica. Para isso usaram geralmente quantidades iguais ou superiores a 10% em volume de fosfatos de cálcio. A proposta desse trabalho foi de adicionar uma pequena quantidade do precursor minoritário (< 10% em volume) de nitrato de cálcio no precursor majoritário de hidreto de titânio para não comprometer as propriedades mecânicas do biomaterial.

Neste trabalho foi utilizada uma nova metodologia para a mistura dos dois precursores. Ao invés da mistura convencional em moinho de bolas ou moinho atritor, os precursores foram dissolvidos por agitação mecânica ou dispersados em água por ultrassom e em seguida misturados e dispersados por ultrassom. A vantagem dessa metodologia é que ela é mais rápida e evita as contaminações dos materiais utilizados na mistura convencional.

Após compactação e sinterização foram realizados estudos sobre a rugosidade e a porosidade de superfície, a microestrutura e fases formadas, as propriedades mecânicas, a molhabilidade da superfície e a citotoxicidade dos materiais. Estes estudos são de fundamental importância para a aplicação de implantes em medicina e odontologia sob condições de solicitação mecânica.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais Utilizados e Mistura

O precursor majoritário usado na fabricação do biocompósito foi o hidreto de titânio (TiH_2). Ele foi produzido e cedido pelo Centro Tecnológico Aeroespacial (CTA). O pó de hidreto de titânio foi obtido pela hidrogenação a 500 °C de finos de esponja de titânio, seguida pela moagem por 6 horas. O diâmetro médio das partículas de TiH_2 , medido por difração a laser, foi de aproximadamente 15 μm [11].

O nitrato de cálcio foi utilizado para formar titanato de cálcio durante a sinterização do biocompósito. O nitrato de cálcio foi adquirido (Vetec Química Fina) na forma hidratada ($Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$) e com pureza de 99%.

A mistura foi realizada com hidreto de titânio contendo 8% em volume de nitrato de cálcio. O nitrato de cálcio foi adicionado em um becker contendo 500 mL de água destilada, que permaneceu sob agitação mecânica por 30 minutos. Posteriormente, foi adicionado o hidreto de titânio na solução, seguido por 5 minutos de dispersão em ultrassom. A mistura homogeneizada por ultrassom foi colocada dentro de um balão tipo pêra, o qual foi acoplado a um evaporador rotativo para a eliminação do solvente (água). O balão ficou parcialmente imerso em um banho de óleo de silicone à 60 °C, submetido à rotação de 8 rpm até evaporação total do solvente. Em seguida, o pó seco foi compactado em uma máquina universal de ensaios mecânicos da marca EMIC, modelo DL 30000 (capacidade máxima de carga de 300 kN), com pressão de compactação uniaxial de 600 MPa.

2.2 Sinterização

Os corpos de prova foram sinterizados à alto vácuo ($\sim 10^{-7}$ torr) em um forno do CTA, modelo Astro-1000 da Thermal Technology Inc. O forno é equipado com sistema de vácuo composto por uma bomba mecânica e uma difusora. A sinterização foi realizada com taxa de aquecimento de 10 °C/min e patamar de 1200 °C durante duas horas. Em seguida os corpos de prova foram resfriados com taxa de resfriamento de 10 °C/min.

Os corpos de prova para ensaios de compressão e de porosidade aberta foram sinterizados com 10 mm de diâmetro e aproximadamente 12 mm de altura. Para o ensaio de rugosidade e determinação do módulo de elasticidade (E) foram confeccionados corpos de prova retangulares com comprimento de 21 mm, largura de 3,75 mm e com aproximadamente 4 mm de altura. Para as análises de difração de raios-X, ângulo de contato e citotoxicidade foram elaborados corpos de prova com dimensões de 10 mm de diâmetro por aproximadamente 5 mm de altura.

2.3 Caracterização Morfológica, Microestrutural e Química

As caracterizações morfológica e microestrutural foram realizadas nos precursores e nas superfícies de fratura dos compósitos sinterizados. As análises foram realizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) nos equipamentos da marca Zeiss, modelo DSM 940, e da marca Jeol, modelo JSM-6701F. Para uma caracterização mais completa das fases formadas nos materiais sinterizados foram realizadas análises por microscopia eletrônica de transmissão (MET). Cavacos do ensaio de compressão de amostras sinterizadas do biomaterial foram moídos à seco com um pistilo até resultar em um pó com finas partículas. Uma pequena porção do pó foi despejada em um Becker contendo álcool etílico PA e a dispersão das partículas foi realizada por meio de uma sonda ultrassônica. Uma gota da suspensão foi então depositada sobre uma grade de cobre revestida com Formvar e carbono. Após a evaporação do solvente os pós foram analisados em um MET de 200 kV da marca Jeol.

2.4 Difratometria de Raios-X

A utilização desta técnica teve como objetivo a caracterização das fases presentes nas matérias primas e no compósito sinterizado. As análises de difração de raios-X foram realizadas em um equipamento da marca SHIMADZU, modelo XRD – 6000. O equipamento tem fonte de radiação $\text{CuK}\alpha$ e as análises foram realizadas com varredura de $1,5^\circ/\text{min}$ e ângulo de difração entre 5° e 60° .

2.5 Calorimetria Diferencial de Varredura e Termogravimetria

As técnicas de calorimetria diferencial de varredura (DSC) e de termogravimetria (TG) foram utilizadas para estudar as transformações de fase do biocompósito durante o aquecimento. Para esses estudos utilizou-se um equipamento de análise térmica da marca NETZSCH, modelo Jupiter STA 409. O ensaio foi realizado com fluxo de argônio e com uma taxa de aquecimento de $5^\circ\text{C}/\text{min}$ até a temperatura de 1000°C .

2.6 Rugosidade da Superfície

A avaliação da rugosidade da superfície foi realizada em três corpos de prova de cada material, sendo que para cada corpo de prova foram realizadas três medidas. As medidas de rugosidade convencional (2D) foram realizadas com um rugosímetro da marca Mitutoyo, modelo SJ-201. Com esse equipamento foi quantificada a rugosidade R_a da superfície das amostras. A rugosidade e a topografia da superfície também foram analisadas por meio de um microscópio confocal a laser da empresa Leica, modelo DCM 3D. Além da imagem topográfica o equipamento fornece o parâmetro S_a .

Os parâmetros R_a (2D) ou S_a (3D) podem ser definidos como sendo a média aritmética dos valores absolutos dos desvios da superfície com relação a uma linha (2D) ou a um plano (3D) médios dentro da área de amostragem. O R_a é a rugosidade medida em linha sobre a superfície enquanto que o S_a é a rugosidade de uma área da superfície.

2.7 Ângulo de Contato

Para medição de ângulo de contato foi utilizado o goniômetro Theta Lite Optical Tensiometer, modelo KSV CAM101. Foram efetuadas cinco medidas de ângulo de contato em três corpos de prova de cada tipo de amostra. O ensaio foi realizado com a deposição de uma gota de 1 mL de água destilada na superfície do corpo de prova por meio de uma seringa. A captura da imagem e o cálculo do ângulo de contato foram realizados após 10 segundos, tempo esse necessário para a estabilização da gota na superfície do material. O equipamento captura a imagem e fornece o ângulo de contato.

2.8 Ensaios Mecânicos

Os ensaios de compressão foram realizados em uma máquina universal de ensaios mecânicos da marca EMIC, modelo DL-30000 com deslocamento da travessa de $0,5\text{ mm}/\text{min}$. Foram ensaiados 5 corpos-de-prova de cada composição para determinar o limite de ruptura dos materiais.

Para determinar o módulo de elasticidade por meio de medidas da frequência natural de vibração foi utilizado o equipamento da marca Sonelastic, modelo PC Based. Foram ensaiados três corpos de prova de cada composição sendo que para cada corpo de prova foram repetidas cinco medidas. Para as medidas do módulo de elasticidade os corpos de prova foram excitados por meio de um choque mecânico manual. A res-

posta acústica foi captada por um captador acústico e processada pelo software, fornecendo automaticamente o módulo de elasticidade (E).

2.9 Porosidade Aberta e Densidade Hidrostática

A porosidade aberta e a densidade hidrostática foram medidas em tréplica pelo método de ARTHUR [12] nos compósitos sinterizados contendo a maior concentração de precursor minoritário. O procedimento consiste em pesar o corpo de prova seco ao ar em gramas (M_I). Posteriormente o corpo de prova é embebido em xileno, removido do meio líquido e pesado ao ar (em gramas) após retirar o excesso de xileno da superfície (M_e). Em seguida, o corpo de prova é pesado novamente (em gramas), mas submerso em água destilada (M_a). A porosidade aberta (PA) é calculada com a equação (1) e a densidade hidrostática (dH) com a equação (2):

$$PA = \frac{(M_e - M_I)d_e}{(M_e - M_a)d_x} 100 \quad (1)$$

$$dH = \frac{M_I \cdot d_e}{M_e - M_a} \quad (2)$$

Onde d_x é a densidade do xileno ($0,8802 \text{ g/cm}^3$) e d_e é a densidade da água (1 g/cm^3).

2.10 Ensaios de Citotoxicidade

Para os ensaios de citotoxicidade foram utilizadas células fibroblásticas de camundongos da linhagem L929, obtidas do American Type Culture Collection (Estados Unidos), pois é um dos tipos de células mais utilizados no estudo de viabilidade celular em biomateriais metálicos. As células foram descongeladas e cultivadas em meio mínimo essencial de Eagle (MEM-Eagle), com adição de $0,03 \text{ mg/mL}$ de L-glutamina, 50 µg/mL de sulfato de gentamicina, $2,5 \text{ mg/mL}$ de fungizona, 10 mM de HEPES e 10% de soro fetal bovino. A cultura das células foi feita a 37°C em estufa de cultivo contendo 5% de CO_2 .

Foram utilizadas amostras sinterizadas dos materiais na forma de disco com 10 mm de diâmetro e 5 mm de espessura. Além do controle em branco (CB), onde as células não foram expostas a nenhum tipo de material, foram utilizados um controle positivo (CP) e um controle negativo (CN) constituídos de um disco de amálgama de cobre (liga metálica de mercúrio e cobre) e de um disco de aço inoxidável AISI 316L, respectivamente.

Três amostras de cada material foram previamente esterilizadas e em seguida colocadas em uma placa de cultura celular de 24 poços juntamente com o meio de cultura MEM-Eagle. Para cada poço foi adicionado 1 mL de solução celular. Após 24 horas de incubação a 37°C as amostras foram retiradas dos poços para análise da viabilidade celular com o uso do sal de brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2il]-2,5-difenil tetrazólio (método MTT).

Para a quantificação das células viáveis foi adicionado 10 µL de MTT por poço e em seguida incubados a 37°C e 5% de CO_2 durante 3 horas. Posteriormente o reagente foi removido e os cristais foram solubilizados em isopropanol com $\text{HCl } 0,1 \text{ N}$. A absorbância foi medida com comprimento de onda de 570 nm com um leitor de Elisa da marca Labexim International, modelo LMR 340-M. Os resultados foram convertidos em porcentagem de células viáveis considerando 100% de viabilidade celular para a absorbância do controle em branco.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Morfologia e Tamanho de Partículas do TiH_2 e da Mistura Seca

A Figura 1a mostra uma imagem, obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV), das partículas do hidreto de titânio recebidas do CTA. As partículas apresentam forma angular irregular e uma grande variação de tamanhos de partículas. Nas imagens por MEV foi observado que o maior volume do material é constituído por partículas micrométricas, mas o pó também contém uma porção de partículas finas submicrométricas.

A Figura 1b mostra uma micrografia realizada no MEV da mistura seca dos precursores. Nas misturas com ultrassom não há alteração das partículas presentes durante a dispersão dos precursores. Portanto, a morfologia e tamanho de partículas do hidreto de titânio são iguais ao material original. Na mistura não foi pos-

sível visualizar nas imagens MEV o precursor minoritário por causa do pequeno tamanho das partículas ou dos precipitados do precursor minoritário. Também não foram observados aglomerados dos precursores na ampliação do MEV.

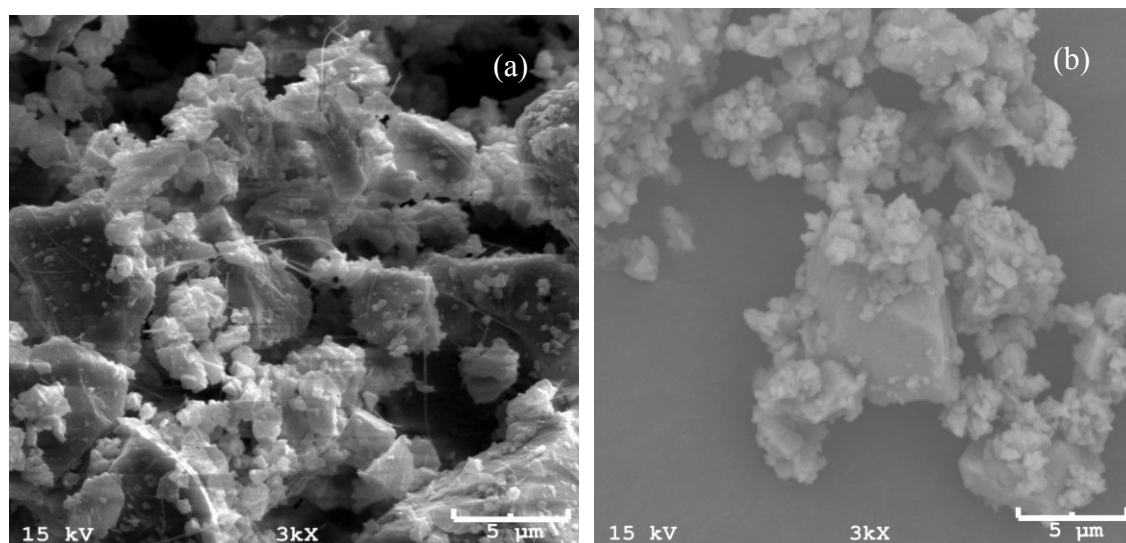


Figura 1: Imagens obtidas por MEV do pó de hidreto de titânio recebido do CTA (a) e da mistura seca de hidreto de titânio com 8% em volume de nitrato de cálcio (b).

3.2 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Termogravimetria (TG) dos Pós

A Figura 2 mostra as curvas DSC e TG do hidreto de titânio recebido do CTA, revelando as transformações que ocorrem durante o aquecimento. A curva de TG mostra um ganho de massa a partir de aproximadamente 550 °C devido à oxidação do titânio, provocada pela presença de ar residual dentro da câmara.

A análise de DSC do hidreto de titânio revelou a existência de dois picos exotérmicos e três picos endotérmicos. Tendo em vista a presença de oxigênio, o pico a 330 °C corresponde a formação de oxihidreto de titânio e/ou à cristalização do anatásio [13]. O pico a 420 °C está próximo daquele de formação do rutilo [13]. O pico endotérmico a aproximadamente 50 °C na curva de DSC é devido à evaporação da água adsorvida na superfície do pó de hidreto de titânio. Os outros picos endotérmicos a aproximadamente 581 °C e 650 °C correspondem à decomposição do TiH_2 [14, 15]. Esses dois picos confirmam que a dehidrogenação do TiH_2 ocorre em duas etapas: decomposição do TiH_2 em TiH_x (onde $0,7 < x < 1,1$) a 581 °C, e do TiH_x em $\alpha-Ti$ a 650 °C [14]. Nesse estudo, os materiais compactados foram sinterizados durante 2 horas. Tendo em vista que a cinética de dehidrogenação é elevada [15], o tempo de sinterização é considerado suficientemente longo para liberação completa do hidrogênio. Contudo, uma pequena concentração de hidrogênio atômico pode ficar retida na estrutura do titânio juntamente com outras impurezas tal como o oxigênio.

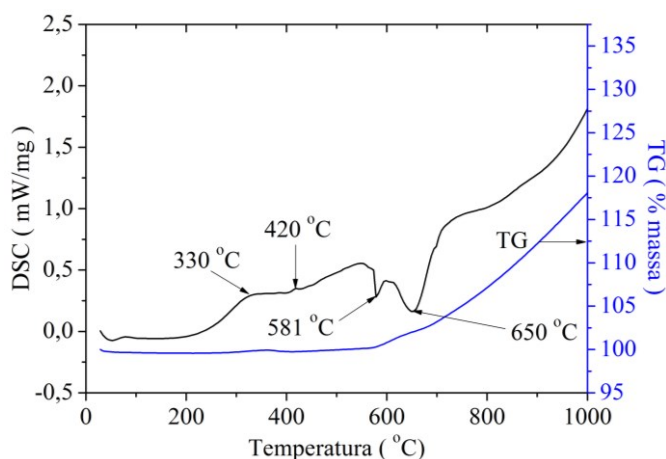


Figura 2: Análise térmica do pó de hidreto de titânio recebido do CTA.

Mostra-se na Figura 3 as curvas TG e DSC da mistura de hidreto de titânio com nitrato de cálcio. O nitrato de cálcio é um material higroscópico resultando em uma maior adsorção de água do que no hidreto de titânio. Isso pode ser observado pela maior perda de massa inicial na Figura 3. Na figura também fica bem nítida outro estágio de perda de massa entre 250 e 400 °C que corresponde ao pico exotérmico a aproximadamente 300 °C. Esse pico exotérmico está associado com a decomposição térmica do nitrato de cálcio de acordo com a seguinte reação:



Pode-se observar na Figura 3 que os picos endotérmicos de dehidrogenação se fundem em um único pico endotérmico mais largo a aproximadamente 570 °C.

Pode-se observar nas Figuras 2 e 3 um ponto de inflexão na curva DSC com aumento da energia térmica entre 800 e 900 °C. Esse ponto de inflexão está relacionado com o início da sinterização dos materiais. Portanto, a sinterização dos materiais inicia em temperaturas abaixo daquelas usadas na literatura para sintetizar compósitos à base de titânio contendo cálcio e fósforo, que foram entre 1000 e 1400 [12, 16].

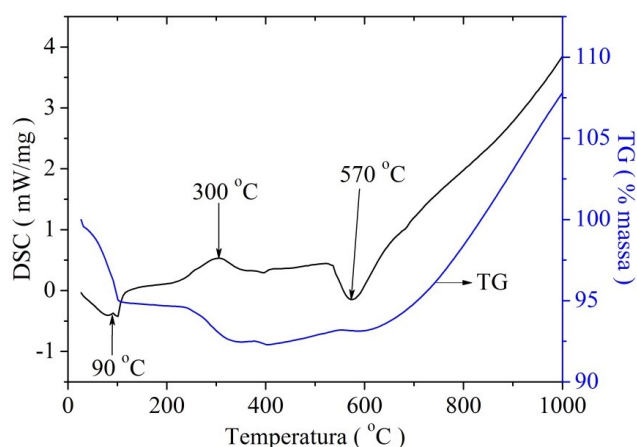


Figura 3: Análise térmica da mistura de hidreto de titânio com 8% em volume de nitrato de cálcio.

NATH *et al.* [16] realizaram um estudo teórico da formação de fases durante a sinterização de compósitos de hidroxiapatita com titânio em atmosfera oxidante e mostraram que a formação de titanato de cálcio é termodinamicamente possível acima de 750 °C. Portanto, acima de aproximadamente 800-900 °C a sinterização do biocompósito também está associada com a formação de titanato de cálcio.

3.3 Microestrutura e Fases Formadas no Biocompósito

A Figura 4a mostra uma imagem da face de ruptura do hidreto de titânio puro sinterizado. Nas imagens analisadas ficou evidente que a ruptura é típica de material que não apresenta deformação plástica. A ruptura é transgranular e ocorre por clivagem, caracterizada pela formação de faces planas de ruptura. No biocompósito sinterizado foram observadas as mesmas características de fratura. Contudo, esse material apresentou maior porosidade, como pode se observado na Figura 4b.

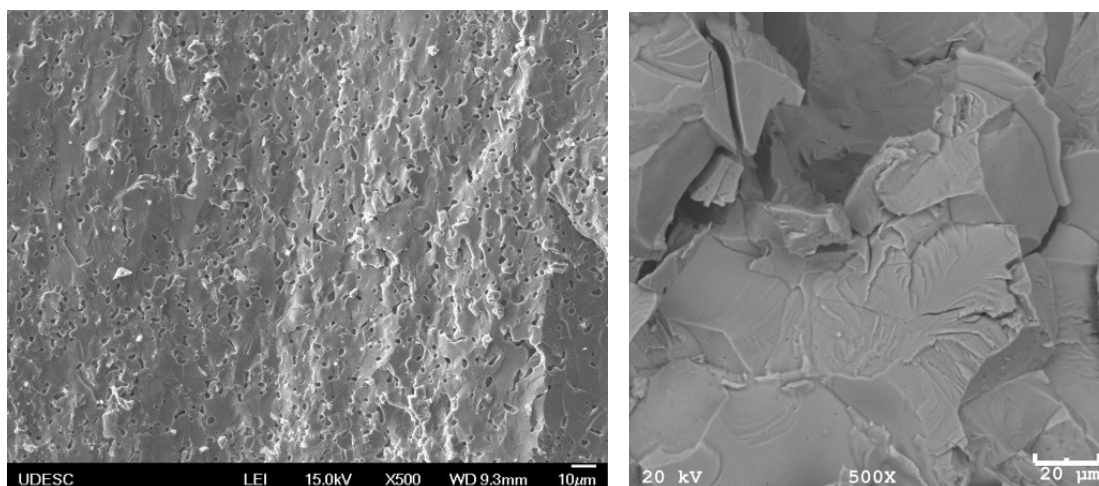


Figura 4: Imagens obtidas por MEV da face de ruptura do hidreto de titânio puro sinterizado (a) e do biocompósito sinterizado (b).

No biocompósito não foi observado a presença de aglomerados. Os particulados depositados nas faces de ruptura são de fragmentos do próprio material, pois as análises foram realizadas em pedaços de corpos de prova recuperados do ensaio de compressão.

A Figura 5 mostra os resultados de DRX do biocompósito antes (Figura 5a) e após a sinterização (Figura 5b). Antes da sinterização foram observados picos do hidreto de titânio e do nitrato de cálcio, que são os componentes (precursores) do biocompósito. No biocompósito sinterizado foram identificados picos correspondentes às fases de titânio e de titanato de cálcio (Figura 5). O titânio resulta da dehidrogenação do hidreto de titânio e o titanato de cálcio da reação entre o titânio e o óxido de cálcio, proveniente da decomposição do nitrato de cálcio durante a sinterização. No hidreto de titânio sinterizado somente foi encontrada a fase α -Ti.

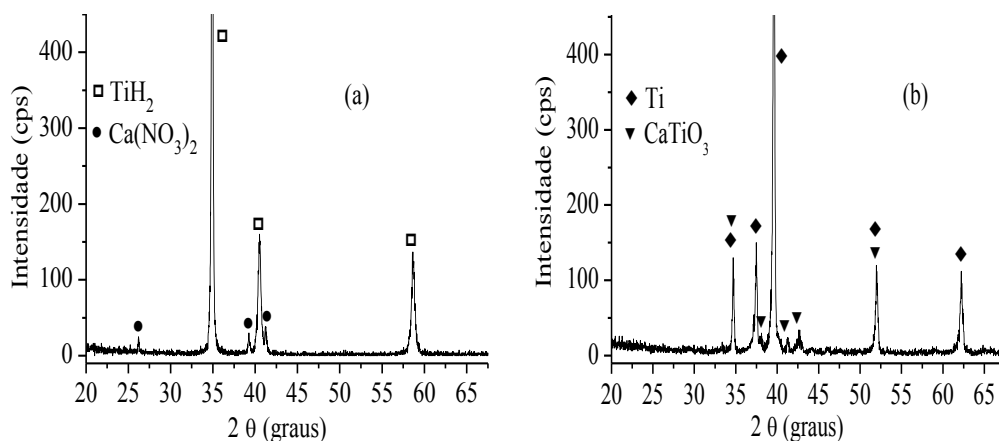


Figura 5: DRX do biocompósito antes (a) e após sinterização (b).

Para um estudo mais completo das fases presentes após sinterização, fragmentos do biocompósito foram analisados por microscopia eletrônica de transmissão (MET). A Figura 6 mostra uma imagem das partículas e a análise EDX da região contendo Ti, Ca e O, que correspondem aos elementos da fase de titanato de cálcio. Nesse compósito a formação de titanato de cálcio pode ser escrita simplificada por meio da seguinte reação:



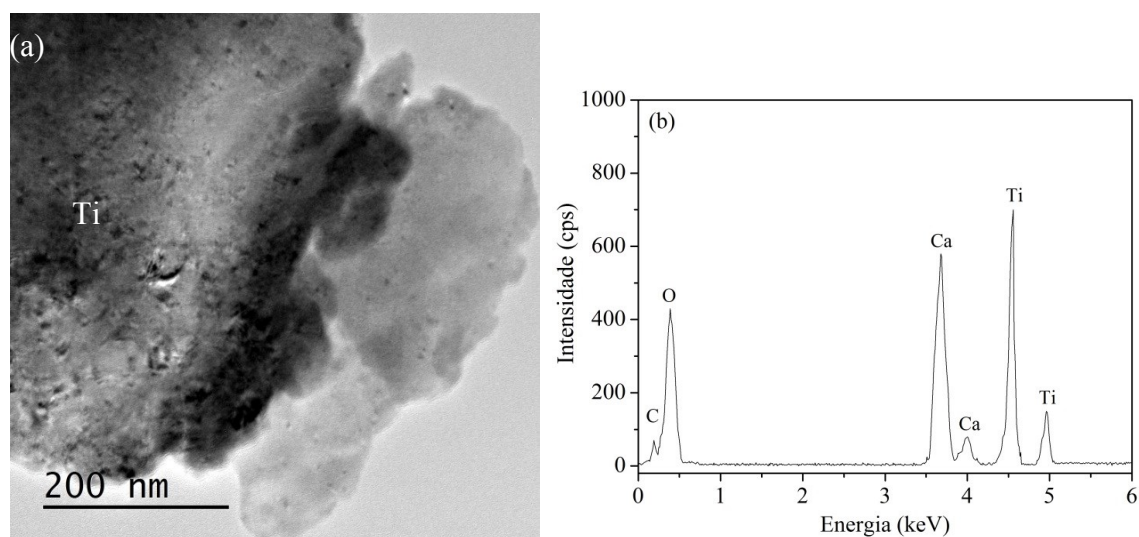


Figura 6: Imagem MET (a) e análise EDX da região contendo a fase de titanato de cálcio (b) formada no compósito sinterizado.

O óxido de cálcio da reação (4) é proveniente da decomposição do nitrato de cálcio de acordo com a equação (3). A oxidação do titânio (TiO_2) é devido ao desprendimento de gases oxidantes durante a decomposição do nitrato de cálcio. A oxidação do titânio também pode ter contribuição da umidade e do ar confinado na porosidade do biocompósito compactado. No biocompósito também foram identificadas regiões ricas em cálcio e oxigênio nas análises de EDX realizadas no MET, indicando a presença de óxido de cálcio nas regiões contendo o titanato de cálcio. O óxido de cálcio encontrado provavelmente é da reação incompleta com o titânio.

3.4 Propriedades Mecânicas dos Materiais Sinterizados

O comportamento mecânico do biocompósito foi estudado por meio de ensaios de compressão e de frequência natural para determinação do módulo de elasticidade (E). Para avaliar o comportamento mecânico do biocompósito foi utilizado como referência o titânio puro (grau 4), que é amplamente utilizado na fabricação de implantes dentários.

O hidreto de titânio e o biocompósito sinterizados apresentaram comportamento frágil sem exibir escoamento antes da ruptura, ao contrário do titânio puro que apresentou ductilidade e tensão de escoamento de aproximadamente 445 MPa. O limite médio de resistência em compressão do hidreto de titânio e do biocompósito foi de $1794,67 \pm 68,30$ MPa e de $481,36 \pm 10,97$ MPa, respectivamente. O limite de resistência do biocompósito diminuiu drasticamente comparado com o hidreto de titânio sinterizado. Contudo, o valor médio do limite de resistência do biocompósito ficou acima daquele do limite de escoamento do titânio puro (grau 4).

O valor do módulo de elasticidade do hidreto de titânio sinterizado (112 GPa) ficou próximo daquele do titânio grau 4 que é de aproximadamente 110 GPa. O módulo de elasticidade do biocompósito diminuiu significativamente e ficou em torno de 75 GPa. Esse valor corresponde ao valor do módulo de elasticidade de biovidros [2].

As propriedades mecânicas estão relacionadas com a microestrutura e a distribuição de fases dos materiais. As fases formadas durante a sinterização são frágeis, resultando em uma menor resistência mecânica do que no material fabricado com hidreto de titânio. Evidentemente que quanto maior a proporção dessas fases frágeis menor é a resistência mecânica. Além da fragilidade da fase de titanato de cálcio, o biocompósito também apresentou maior porosidade do que o hidreto de titânio sinterizado. Essa maior porosidade também contribuiu para uma menor resistência mecânica do biocompósito. Quanto ao módulo de elasticidade, sua diminuição no biocompósito está relacionada com a formação de titanato de cálcio durante a sinterização e com a porosidade presente no biocompósito.

3.5 Rugosidade da Superfície

A Tabela 1 mostra a rugosidade da superfície dos materiais medida com o rugosímetro de contato e com o microscópio confocal a laser. Percebe-se que a diferença nos valores médios de rugosidade é pequena entre os materiais. A rugosidade medida com o rugosímetro ficou entre 1,4 e 1,5 μm e aquela medida com o confocal a laser ficou entre 1,4 e 1,9 μm . Embora a rugosidade R_a seja a mais mencionada na literatura, a rugosidade S_a é a mais representativa, pois ela corresponde à rugosidade de toda a área de amostragem.

Tabela 1: Rugosidade média dos materiais sinterizados.

Material	Rugosímetro	Confocal a laser	
	R_a (μm)	R_a (μm)	S_a (μm)
TiH_2	$1,4 \pm 0,2$	$1,367 \pm 0,567$	$1,567 \pm 0,345$
$\text{TiH}_2/8\% \text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	$1,5 \pm 0,1$	$1,891 \pm 0,461$	$1,811 \pm 0,269$

A vantagem da microscopia confocal a laser é que ela também fornece um mapa da topografia da superfície dos materiais. As Figuras 7a e 8a mostram imagens topográficas dos materiais sinterizados, escolhidas aleatoriamente dentre as muitas imagens realizadas durante os ensaios. Na Figura 7b e 8b tem-se um perfil de rugosidade da região intermediária da área escaneada da Figura 7a e 8a, respectivamente, para fins de ilustração.

De acordo com os trabalhos publicados, a rugosidade média do biocompósito é classificada como rugosidade moderada, pois fica dentro da faixa de 1 a 2 μm . Superfícies com R_a inferiores a 1 μm são classificadas como sendo de baixa rugosidade e com rugosidade superiores a 2 μm são classificadas como rugosas [17, 18].

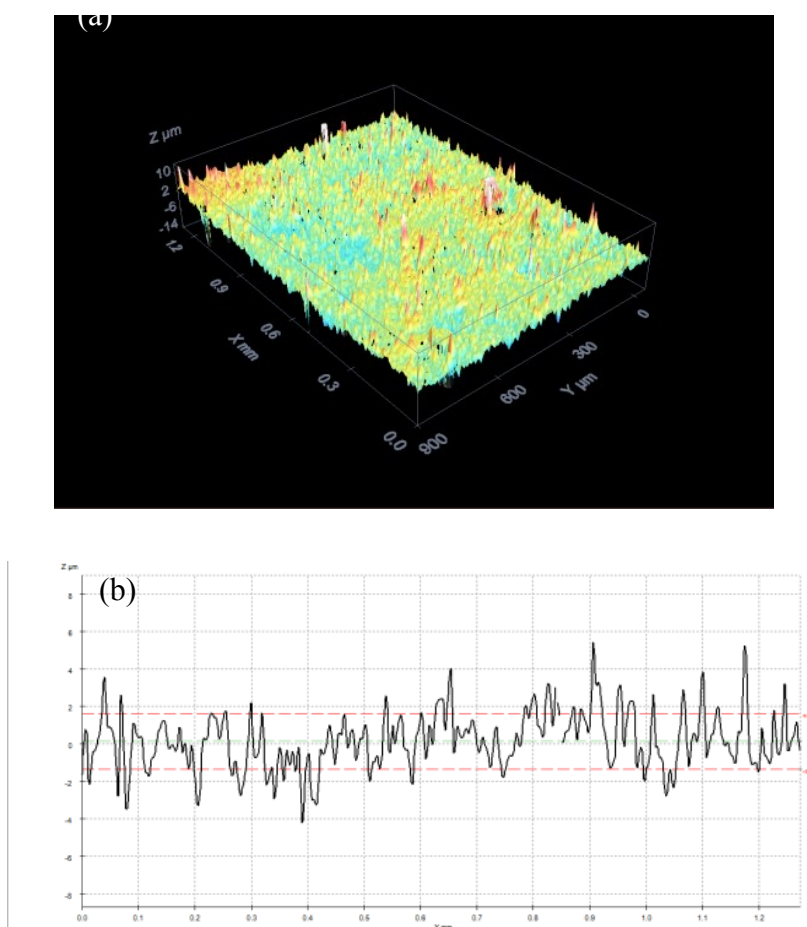


Figura 7: Imagem topográfica (a) e perfil de rugosidade (b) da superfície do TiH_2 sinterizado obtida por microscopia confocal a laser.

Outro aspecto importante da topografia está na distância entre os picos de rugosidade ou no tamanho da porosidade de superfície. Pode-se observar nos perfis de rugosidade apresentados nas Figuras 7b e 8b que a distância média entre os picos é de aproximadamente 20 μm . A distância média entre os picos maiores, com altura superior a 1 μm com relação à linha média, é de aproximadamente 40-50 μm . Tendo em vista que o tamanho dos osteoblastos é de 20-30 μm [19, 20], essas células conseguem se colocar entre os picos de rugosidade do biocompósito fabricado nesse trabalho.

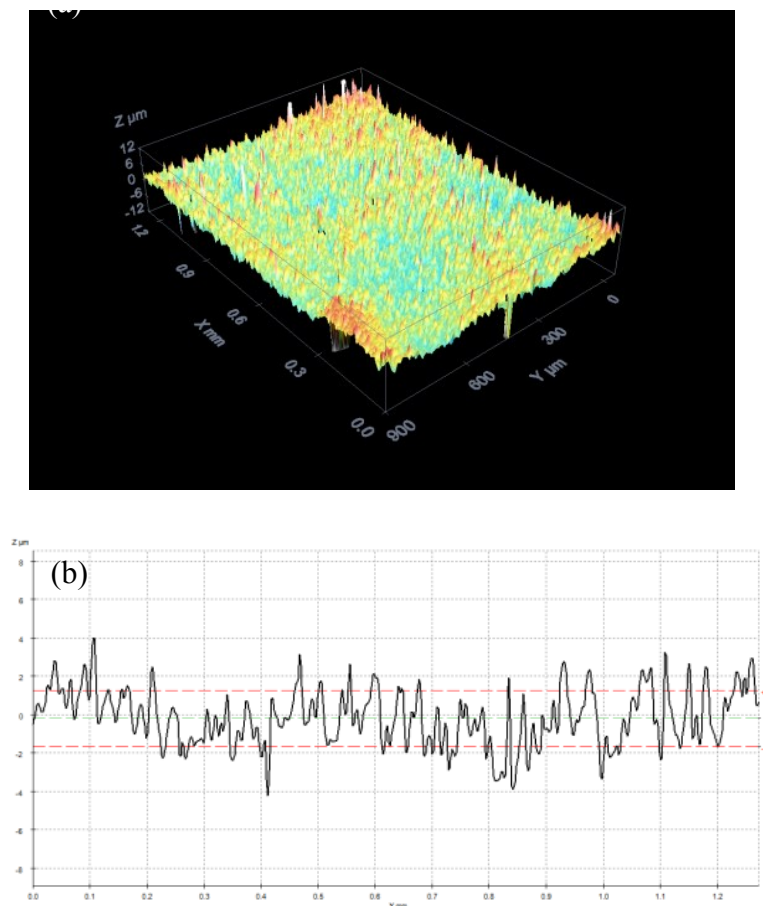


Figura 8: Imagem topográfica (a) e perfil de rugosidade (b) da superfície do composto $\text{TiH}_2/8\% \text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ sinterizado obtida por microscopia confocal a laser.

3.6 Porosidade Aberta e Ângulo de Contato

A Tabela 2 mostra a porosidade aberta e a densidade hidrostática dos materiais sinterizados. Pode-se observar que a porosidade é maior no biocompósito. Esse valor está de acordo com as análises microscópicas da microestrutura do biocompósito, onde foi observado maior porosidade.

As medidas experimentais mostraram que os valores médios dos ângulos de contato do hidreto de titânio e do biocompósito, ambos sinterizados, foram de $94,29 \pm 2,80$ graus e $83,55 \pm 2,15$ graus, respectivamente.

O ângulo de contato depende das propriedades físico-químicas e da composição química da superfície do material. Tendo em vista que o hidreto de titânio sinterizado apresenta uma topografia de superfície similar àquela do biocompósito, a diferença no ângulo de contato está associada com a porosidade e à presença de titanato de cálcio. O titanato de cálcio é conhecido como sendo um material bioativo [9, 10]. Portanto, a presença dessa fase assim como a diminuição do ângulo de contato do biocompósito são resultados positivos no que se refere à osseointegração.

Tabela 2: Porosidade aberta (PA) e densidade hidrostática (dH) dos materiais sinterizados.

Material	PA (%)	dH (g/cm ³)
TiH ₂	1,096 ± 0,151	4,427 ± 0,022
TiH ₂ /8%Ca(NO ₃) ₂	3,132 ± 0,326	4,421 ± 0,023

Investigações científicas da resposta biológica sobre superfícies do titânio mostraram que ocorre uma melhora da osteogênese quando a molhabilidade da superfície aumenta (ou o ângulo de contato diminui) [21]. A molhabilidade exerce um papel importante na adsorção de proteínas e influencia o grau de contato com o meio fisiológico. Superfícies do titânio hidrofílicas apresentam um melhor desempenho biológico do que aquelas hidrofóbicas porque elas proporcionam uma melhor interação com o meio biológico, células e tecidos [22].

Deve-se salientar que o ataque ácido é usado comercialmente para alterar a rugosidade do titânio. Esse tipo de tratamento de superfície produz microrugosidade com tamanho entre 0,5 e 2 µm na superfície do titânio [17]. Essa rugosidade promove a osseocondição por meio da fixação de fibrinas e células osteogênicas resultando na formação de osso diretamente na superfície do implante [23]. Foi mostrado que o ângulo de contato de uma gota de água destilada depositada na superfície do titânio com esse tipo de tratamento fica entre 90 e 96 graus [24], aproximadamente uma dezena de graus a mais do que o biocompósito apresentado nesse trabalho. O ângulo de contato é inversamente proporcional à energia de superfície do titânio. Quanto menor o ângulo de contato maior a energia de superfície responsável pela reatividade de superfície do titânio com o meio fisiológico.

3.7 Ensaios de Citotoxicidade

A Tabela 3 mostra a porcentagem de células viáveis após 24 horas de contato com os materiais. Pode-se observar que o biocompósito apresentou uma porcentagem média de células viáveis um pouco acima de 100%. Provavelmente, essa maior viabilidade celular está relacionada com a formação de titanato de cálcio no biocompósito.

Tabela 3: Viabilidade celular dos materiais.

Material	% Células viáveis
Controle em branco	100,00 ± 1,86
Controle negativo (aço AISI 316L)	98,47 ± 2,27
Controle positivo (amálgama de cobre)	32,29 ± 2,79
TiH ₂	97,94 ± 1,95
TiH ₂ /8%Ca(NO ₃) ₂	104,75 ± 2,08

Esses resultados estão de acordo com os estudos de viabilidade celular do titanato de cálcio, realizados por PARK *et al.* [25]. Eles elaboraram uma camada de titanato de cálcio sobre uma liga de titânio por meio de tratamento em solução alcalina contendo cálcio em autoclave. Em seguida o material foi tratado termicamente para cristalizar a camada de titanato de cálcio. Os ensaios *in vitro* com células de camundongos durante três dias mostraram que a viabilidade celular do material revestido foi de aproximadamente 150% enquanto que aquela da liga sem o revestimento foi próxima de 100%. A camada de titanato de cálcio também aumentou a aderência das células comparada com aquela do material não revestido.

A porcentagem média de células viáveis do hidreto de titânio sinterizado ficou próxima daquela do controle negativo (aço inoxidável), que foi em torno de 98%. Esses valores ficaram próximos daqueles de biomateriais utilizados em odontologia. GULCE İZ *et al.* [26] realizaram ensaios de citotoxicidade com fibroblastos de camundongos (L929) no titânio (Ti) grau 4, na liga Ni-321 e nos aços inoxidáveis 321 e 304L. Os autores não observaram diferença significativa na porcentagem de células viáveis entre os materiais. A porcentagem média de células viáveis após 24 horas de exposição foi de 99%, 98%, 97% e 95% para o Ti grau 4, liga Ni-321 e aços inoxidáveis 321 e 304L, respectivamente. De acordo com os autores, porcentagens

médias de células viáveis iguais ou superiores a 95% são uma indicação de que os materiais são altamente biocompatíveis.

Dos SANTOS *et al.* [27] também estudaram a citotoxicidade de ligas ortodônticas com fibroblastos de camundongos da linhagem L929 por um período de 24 horas. Eles observaram que o aço inoxidável do tipo 316 e a liga titânio-molibdênio apresentaram em média uma viabilidade celular de 95,1% e de 98,8%, respectivamente, enquanto que a porcentagem média de células viáveis para a liga níquel-titânio (> 50% em massa de Ni) foi de 83,1%. A menor viabilidade celular da liga Ni-Ti foi atribuída à dissolução de níquel, o qual é considerado alergênico, causando maior dano celular do que os outros materiais.

A porcentagem de células viáveis do controle positivo (amálgama de cobre) ficou bem abaixo daquela dos outros materiais apresentados na Tabela 3. O cobre é um material bem conhecido por sua citotoxicidade, sendo que os resultados ficaram dentro do esperado. De acordo com os resultados obtidos, a porcentagem média de células viáveis em presença do biocompósito é alta, característica de materiais biocompatíveis.

4. CONCLUSÕES

Esse trabalho mostrou que é possível elaborar um biocompósito de hidreto de titânio com nitrato de cálcio por meio de misturas por ultrassom sem a presença de aglomerados.

O limite médio de resistência em compressão do biocompósito contendo 8% em volume de nitrato de cálcio e 92% TiH₂ foi de 481 MPa, aproximadamente 35 MPa maior do que o limite de escoamento do titânio puro grau 4 (445 MPa). Esse biocompósito apresentou porosidade aberta da ordem de três vezes maior do que aquela do hidreto de titânio sinterizado. Apresentou também módulo de Young de aproximadamente 35 GPa inferior àquele do titânio puro (110 GPa) e ângulo de contato de aproximadamente 10 graus inferior àquele do hidreto de titânio sinterizado.

As fases formadas durante a sinterização do biocompósito foram α -Ti e CaTiO₃. Nas análises MET também foi encontrado vestígios de óxido de cálcio nesse biocompósito. No nitrato de titânio sinterizado somente foi encontrada a fase α -Ti.

Os materiais sinterizados apresentaram rugosidade moderada, com Sa entre 1,4 e 1,9 μ m, altura máxima e mínima de picos entre $\pm 6 \mu$ m e distância entre os picos de rugosidade de até algumas dezenas de micrômetros. Não houve diferença significativa na rugosidade entre o biocompósito e o hidreto de titânio puro sinterizados.

Nos ensaios de citotoxicidade realizados foi observado que os materiais não apresentam caráter citotóxico. A porcentagem de células viáveis foi de aproximadamente 5 a 6% maior no biocompósito sinterizado quando comparada com o aço inoxidável 316L ou com o hidreto de titânio sinterizado, respectivamente.

5. BIBLIOGRAFIA

- [1] BRÄNEMARK, P.-I., BREINE, U., ADELL, R., *et al.*, “Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I - Experimental studies”, *Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery and hand surgery*, v. 3, pp. 81-100, 1969.
- [2] BARBOSA, G.F., *Parafuso protético de reabilitações dentárias sobre implantes estudo mecânico e análise pelo método de elementos finitos*, Mestrado de M.Sc., Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.
- [3] PIRES, A.L.R., BIERHALZ, A.C.K., MORAES, A.M. “Biomateriais: tipos, aplicações e mercado”, *Química Nova*, v. 38, pp. 957-971, 2015.
- [4] CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA, <http://cfo.org.br/todas-as-noticias/cresce-o-numero-de-implantes-dentarios-no-brasil>. Acesso em 18 de abril de 2015.
- [5] DENTAL TRIBUNE BRAZILIAN EDITION, http://www.dental-tribune.com/htdocs/uploads/printarchive/editions/eec47ec9f9cf2da87ed3213e3845b0fc_2-2.pdf. Acesso em 19 de abril de 2015.
- [6] SAERI, M.R., AFSHAR, A., GHORBANI, M., *et al.*, “The wet precipitation process of hydroxyapatite”, *Materials Letters*, v. 57, pp. 4064-4069, 2003.
- [7] RACK, H.J., QASI, J.I. “Titanium alloys for biomedical applications”, *Materials Science and Engineering C*, v. 26, pp. 1269-1277, 2006.
- [8] NING, C., ZHOU, Y. “Correlations between the in vitro and in vivo bioactivity of the Ti/HA composites fabricated by a powder metallurgy method”, *Acta Biomaterialia*, v. 4, pp. 1944-1952, 2008.

- [9] OHTSU, N., ITO, A., SAITO, K., NANAWA, T., “Characterization of calcium titanate thin films deposited on titanium with reactive sputtering and pulsed laser depositions”, *Surface & Coatings Technology*, v. 201, pp. 7686–7691, 2007.
- [10] OHTSU, N., ABE, C., ASHIMO, T., *et al.*, “Calcium-hydroxide slurry processing for bioactive calcium-titanate coating on titanium”, *Surface & Coatings Technology*, v. 202, pp. 5110–5115, 2008.
- [11] MARCELO, T.M., LIVRAMENTO, V., OLIVEIRA, M.V., *et al.*, “Microstructural Characterization and Interactions in Ti-and TiH₂-Hydroxyapatite Vacuum Sintered Composites”, *Materials Research*, v. 9, pp. 65-71, 2006.
- [12] PENNINGS, E.C.M., GRELINER, W., “Precise non destructive determination of the density of ceramic”, *Journal of American Ceramic Society*, v. 72, pp. 1268-1270, 1989.
- [13] GEMELLI, E., SCARIOT, A., CAMARGO, N.H.A., “Thermal characterization of commercially pure titanium for dental applications”, *Materials Research*, v. 10, pp. 241-246, 2007.
- [14] BHOSLE, V., BABURAJ, E.G., MIRANOVA, M., *et al.*, “Dehydrogenation of TiH₂”, *Materials Science and Engineering A*, v. 356, pp. 190–199, 2003.
- [15] MARTIN, M., GOMMEL, C., BORKHART, C., *et al.*, “Absorption and desorption kinetics of hydrogen storage alloys”, *Journal of Alloys and Compounds*, v. 238, pp. 193-201, 1996.
- [16] NATH, S., TRIPATHI, R., BASU, B., “Understanding phase stability, microstructure development and biocompatibility in calcium phosphate–titania composites, synthesized from hydroxyapatite and titanium powder mix”, *Materials Science and Engineering C*, v. 29, pp. 97–107, 2009.
- [17] LE GUÉHENNEC, L., SOUEIDAN, A., LAYROLLE, P., *et al.*, “Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration”, *Dental Materials*, v. 23, pp. 844- 854, 2007.
- [18] ALBREKTSSON, T., SENNERBY, L., WENNERBERG, A., “State of the art of oral implants”, *Periodontology 2000*, v. 47, pp. 15 – 26, 2008.
- [19] RHO, J.Y., KUHN-SPEARING, L., ZOUPOS, P., “Mechanical properties and the hierarchical structure of bone”, *Medical Engineering & Physics*, v. 20, pp. 92–102, 1998.
- [20] PUCKET, S., PARETA, R., WEBSTER, T.J., Nano rough micron patterned titanium for directing osteoblast morphology and adhesion”, *International Journal of Nanomedicine*, v. 3, pp. 229–241, 2008.
- [21] ZHAO, G., SCHWARTZ, Z., WIELAND, M., *et al.*, “High surface energy of SLActive implants enhances cell response to titanium substrate microstructure”, *Journal of Biomedical Material Research A*, v. 75, pp. 49-58, 2005.
- [22] LAMPIN, M., CLÉROUT, W., LEGRIS, C., *et al.*, “Correlation between substratum roughness and wettability, cell adhesion and cell migration”, *Journal of Biomedical Material Research*, v. 36, pp. 99-108, 1997.
- [23] PARK, J.Y., DAVIES, J.E. “Red blood cell and platelet interactions with titanium implant surfaces”, *Clinical Oral Implants Research*, v. 11, pp. 530–539, 2000.
- [24] ELIAS, C. N., OSHDA, Y., LIMA, J.H.C., *et al.*, “Relationship between surface properties (roughness, wettability and morphology) of titanium and dental implant removal torque”, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, v. 3, pp. 747-747, 2008.
- [25] PARK, J.-W., TUSTUSMI, Y., LEE, C.S., *et al.*, “Surface structures and osteoblast response of hydrothermally produced CaTiO₃ thin film on Ti–13Nb–13Zr alloy”, *Applied Surface Science*, v. 257, pp. 7856–7863, 2011.
- [26] GULCE İZ, S., DELİLOĞLU GURHAN, S.I., ŞEN, B.H., *et al.*, “Comparison of in vitro cytotoxicity and genotoxicity of MMA-based polymeric materials and various metallic materials”, *Turkisc Journal of Medical Science*, v. 40, pp. 905-916, 2010.
- [27] SANTOS, R.L., PITHON, M.M., NASCIMENTO, L.E.A.G., *et al.*, “Citotoxicidade de soldas elétricas a ponto: estudo in vitro”, *Dental Press Journal of Orthodontics*, v. 16, n.3, pp. 57.e1-6, 2011.